

动物组蛋白的核磁共振波谱学—光谱学研究

HIGH RESOLUTION NMR—OPTICAL SPECTRA STUDIES OF HISTONES
FROM MAMMALIAN

关键词 组蛋白 光谱技术 化学位移 镜峰强度

Key words Histone Optical spectra techniques Chemical shifts Intensity resonances

在染色体上与DNA往往交织在一起形成复合体并对基因调控密切有关的组蛋白含量很丰富，它与遗传信息分子DNA的比例约为1:1。DNA贮存有生物进化的历史信息资料，是生物的重要遗传物质。有人应用核磁共振技术分析不同种生物来源的DNA的T—CH₃（胸腺嘧啶核苷酸的甲基）质子峰强度11.71ppm/11.83ppm的比值，发现有种族的差异性。我们曾在一文中，分析过小牛胸腺组蛋白的核磁共振波谱学特征。本文则是进一步报道采用核磁共振波谱学—紫外光谱学技术研究多种动物组蛋白的新结果。

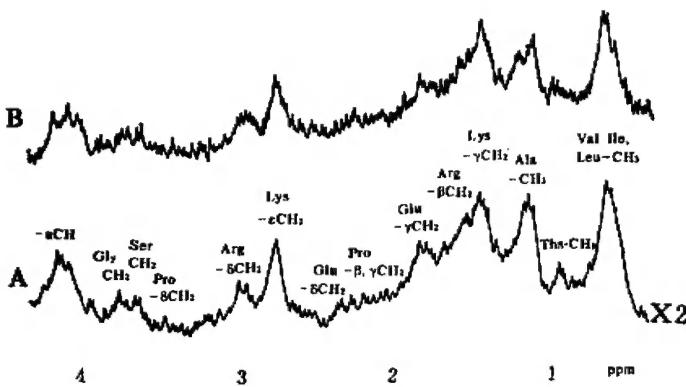


Fig. 1 250MHz ¹H NMR spectrum of histones.

A 小白鼠心组蛋白 B 小白鼠脑组蛋白

实验材料和方法 动物组蛋白样品都是按E. W. Johns, D. Oliver等方法，从小牛胸腺、脾，大白鼠肝和昆明小白鼠脾、肝、心、脑等器官组织分别提取制备。

样品在室温下置入5mm核磁共振样品管内，滴入中性D₂O使其溶解，浓度为10mg/ml，曾分别采用ZWH-360和250MC超导核磁共振仪以及脉冲付里叶变换核磁共振仪记录高分辨谱。以TMS作参比物，化学位移单位是ppm。

紫外吸收光谱参数，系用OPTOM-PM4型紫外分光光度计记录。

下转第20页

* 本研究承中国科学院化学所、感光所协助，特致谢意。

本文1983年3月25日收到，1984年4月13日收到修改稿。

本文承潘清华教授审阅，特致谢意。

上接第14页

Table. 1 ^1H NMR chemical

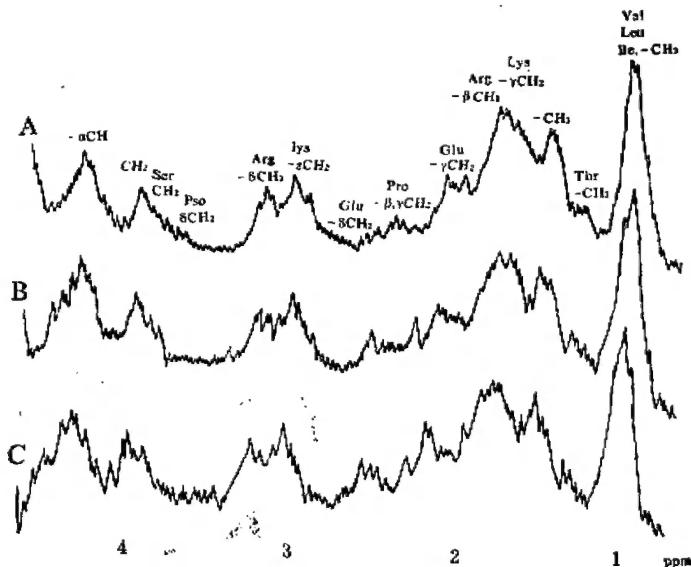
chemical shifts (ppm)	proton peaks	Val	Leu Ile -CH ₃	Thr -CH ₃	Ala -CH ₃	Lys - γ CH ₂	Lys - δ CH ₂	Arg - β CH ₂	Arg - γ CH ₂	GLu - β CH ₂
Calf thymus	0.73	1.03	1.23	1.30	1.50	1.53	1.63	1.89		
Calf spleen	0.73	1.03	1.23	1.30	1.50	1.53	1.63	1.89		
Rat liver	0.73	1.03	1.23	1.30	1.50	1.53	1.63	1.89		
Rat spleen	0.73	1.03	1.23	1.30	1.50	1.53	1.63	1.89		
Rat liver	0.73	1.03	1.23	1.30	1.50	1.53	1.63	1.89		
Rat heart	0.73	1.03	1.23	1.30	1.50	1.53	1.63	1.89		
Rat brain	0.73	1.03	1.23	1.30	1.50	1.53	1.63	1.89		

结果和讨论

核磁共振实验结果 本文首先分析了昆明小白鼠不同器官组织组蛋白的核磁共振波谱特征和参数。图1所示是在室温下，中性D₂O内昆明小白鼠二种器官组蛋白的250MC超导核磁共振仪一次扫描的波谱记录。小白鼠各种器官组蛋白的核磁共振参数，参见表1。由图1和表1可见，同一种动物不同器官来源的组蛋白，各氨基酸残基质子峰排布概况和波谱特征其极相同。

图2则是不同动物组织器官组蛋白的脉冲付里叶变换核磁共振仪的波谱记录。它们的化学位移值参见表1。

由图2和表1可见，在我们的实验条件下，所测得的几种不同动物脏器来源的组蛋白的核磁共振波谱特征也极其相同。

Fig. 2. 100MHz ^1H NMR spectrum of histones.

下转第26页

A 小牛胸腺组蛋白 B 大白鼠肝组蛋白 C 小白鼠脾组蛋白

上接第20页

Shifts of Histones

Pro 2 - $\beta\gamma\text{CH}$	GLu 2 - γCH_3	Mlys 2 - ϵCH	Lys 2 - ϵCH_2	Arg 2 - δCH	Pro 2 - δCH_2	Ser 2 - CH	Gly 2 - CH_2	x-CH	Lys 2 - βCH_2	Lys 2 - βCH_2	Val, Leu, Ile-CH ₃ 峰强度
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5
1.90	2.25	2.73	2.86	3.06	3.47	3.70	3.79	4.16	1.67	2.0	6.5

组蛋白的紫外光谱实验 所测得样品是按mg/ml H₂O或0.1N HCl 配制成组蛋白的溶液, 在OPTOM-PM₄型紫外光度计上直接测得其O. D值并绘制成紫外吸收曲线图。上述实测的各种动物组蛋白的紫外吸收光谱的共同特征, 是在275μm处形成一吸收高峰, 而在280μm处出现一“肩峰”形下降。其O. D_{250/275}和O. D_{280/275}的比值参见表2。

Table 2 UV-optical spectra of Histones

Histones	O. D 250μm/275μm	O.D 280μm/275μm	concentration
			mg/ml
rat liver	0.813	0.952	mg/ml H ₂ O
Calf thymus	0.840	0.933	#
Calf spleen	0.879	0.941	#
Rat liver	0.843	0.951	#
Rat heart	0.881	0.896	#
Rat brain	0.901	0.896	#
Calf thymus	0.540	0.909	mg/ml 0.1NHCl
Calf spleen	0.529	0.903	#
Rat liver	0.565	0.927	#

我们从遗传进化观点, 通过核磁共振波谱学和紫外光谱学的分析研究, 发现上述已测的不同动物组织器官来源组蛋白的波谱和光谱结果都极为相似, 两者参数可互为印证。我们的电泳图谱资料也表明了这些动物组蛋白的组织器官特异性不显著, 种族特异性也不显著。

这些动物组蛋白的核磁共振波谱特征与我们在小牛胸腺组蛋白研究中所获的资料相吻合, 其氨基酸的谱质子峰分布和化学位移参数与文献记载一致。紫外吸收光谱特征文献也证明过。其后资料也发现过, 甚至两种在进化关系上极为不同阶梯上的小牛胸腺和豌豆来源的组蛋白只有两个氨基酸不同。我们的实验结果进一步表明动物组蛋白在遗传进化上是非常保守的, 漫长的生物演化历程中, 这种生物分子的变异性很小。

我们还考虑到, 上述所研究的组蛋白皆为总组蛋白, 未能显示出组织器官的特异性和种族特异性, 但它的五种组分是否也这样, 这五种组分与遗传物质核酸相互作用的结构模式有无各自的特征皆需进一步探讨。

袁传熙 张 诚 吴 军

(中国科学院遗传研究所技术室)